



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

Profundizando en la indometacina:
Aspectos generales, dispersión sólida y análisis.

Autor: Roberto Suárez Urbietta

Tutor: Pilar Gomez Serranillos

Convocatoria: Febrero 2017

Objetivos	3
Introducción	3
-Formas del estado sólido.	3
-Preparación de dispersiones sólidas.....	4
-Caracterización de estado sólido:	5
Indometacina	5
-Unión a receptor	6
-Síntesis	8
Xilitol.....	9
Preparación de dispersión sólida de indometacina con xilitol.....	10
Ensayos de caracterización	10
-De disolución.....	10
-Espectroscopía Raman	11
-Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier	13
Conclusión	16
Referencias bibliográficas.	17

Objetivos

1. Introducir las diversas formas del estado sólido de una manera general.
2. Indagar en aspectos generales de la indometacina así como su síntesis y el porqué de sus efectos adversos.
3. Describir una formulación de la indometacina como una dispersión sólida con el xilitol.
4. Explicar el fundamento y la importancia de diversos métodos analíticos a la hora de evaluar una dispersión sólida sirviéndose del ejemplo de la indometacina con el xilitol.

Introducción

-Formas del estado sólido.

Muchos de los principios activos pueden existir en formas diferentes de estado sólido (polimorfos cristalinos, hidratos de cristal y forma amorfa). Éstos se diferencian entre sí por la disposición de las moléculas en el espacio tridimensional. En el caso de formas cristalinas, las moléculas adquieren una disposición ordenada en todas las direcciones. La forma amorfa se caracteriza por la falta de orden de tres dimensiones. Debido a la diferente disposición de las moléculas, las propiedades de las formas de estado sólido son diferentes. Como la forma amorfa no tiene un orden tridimensional, por lo general tiene más alta su tasa de disolución. Además, debido a la falta de estructura cristalina estado amorfo es inestable.

Las propiedades de un sólido amorfo cambian a una determinada temperatura denominada temperatura de transición vítrea (T_g) que es siempre inferior a la temperatura de fusión del estado cristalino del mismo material (si existe).

La forma amorfa se puede estabilizar mediante la elaboración de una dispersión sólida. Esto implica dispersar el ingrediente farmacéutico activo en un vehículo adecuado. El vehículo puede disminuir la movilidad molecular del ingrediente farmacéutico activo o se puede formar un puente específico entre el vehículo y el fármaco que estabilizando así la forma amorfa.

El término de dispersión sólida se refiere a la dispersión de uno o más ingredientes activos en un soporte o matriz inerte en estado sólido preparado por el método de fusión, disolvente o el método de disolvente-fusión (un método mixto). Sin embargo se han descubierto nuevos métodos de obtención de dispersiones sólidas más adelante mencionadas.

Preparación de la forma amorfa

Hay varias maneras de obtener material amorfo [1]. “Melt quenching” implica el enfriamiento de la forma fundida del material rápidamente. El método de disolvente implica disolver el material sólido y eliminación del disolvente por calentamiento y reducción de la presión o mediante secado por pulverización. A parte de estos métodos hay otros más secundarios como por radiación, amorfización inducida por presión...

-Preparación de dispersiones sólidas

Existen diversas maneras de obtener dispersiones sólidas. El método de fusión implica el calentamiento de todos los componentes por encima de sus temperaturas de fusión o de transición vítrea, seguido por la mezcla y enfriamiento. Método de disolvente implica disolver el ingrediente farmacéutico activo y el vehículo en un disolvente común seguido de la evaporación del disolvente dado.

Electrospinning implica hacer atravesar hilos de soluciones de polímero a través de campo eléctrico elevado. Se basa en la aplicación de suficientes fuerzas eléctricas que superan las fuerzas de tensión superficial en la solución de polímero cargado, corrientes finas de solución son expulsados del capilar a la placa de colector. Posteriormente, la corriente se mueve en la dirección del campo eléctrico, alargandose de acuerdo con las fuerzas externas e internas y experimentando inestabilidades puntuales. Se evapora el disolvente y las fibras se depositan segmentos al azar sobre un sustrato.

-Caracterización de estado sólido:

La espectroscopia vibracional abarca la espectroscopia Raman, IR, NIR, terahertz y algunas otras técnicas. Al irradiar la muestra con un haz de láser con longitud de onda específica, la luz será dispersada por la muestra. La mayor parte de la dispersión de luz tiene la misma longitud de onda como la del haz incidente. Si la luz de láser interactúa con las vibraciones moleculares, como resultado, la energía de los fotones láser dispersada se desplazará hacia arriba o abajo. La variación en la energía dará información sobre los modos de vibración en el sistema.

En el caso de espectroscopia infrarroja, la radiación IR se hace pasar a través de una muestra. Parte de la radiación infrarroja es absorbida por la muestra y parte de ella es pasa a través de la muestra (se transmite). El espectro resultante representa la absorción molecular y de la transmisión, creando una huella digital molecular de la muestra.

La difracción de rayos X se basa en la interferencia constructiva de los rayos X monocromáticos y una muestra cristalina. Estos rayos X son difractados por la muestra, la intensidad de estos rayos difractados es uno de los parámetros que se medirá. Un componente clave de toda la difracción es el ángulo entre el incidente y rayos difractados que también se utiliza para determinar la ausencia de cristalinidad.

Indometacina [2].

La indometacina (Fig. 1) es un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo; puede reducir la fiebre, el dolor y la hinchazón. (Brayfield, A., 2014)

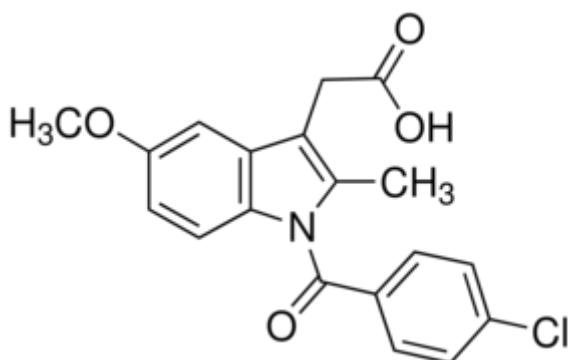


Figura 1. Estructura de la Indometacina

Por lo general, se suministra como sustancia cristalina; la desventaja de esto es su mala solubilidad en agua. Por otro lado, la indometacina puede cruzar a través de las membranas fácilmente; por lo tanto, según la clasificación biofarmacéutica de sustancias, la indometacina corresponderá a la clase II.

Debido a problemas de solubilidad hay muchos estudios que tratan de mejorar la solubilidad de la indometacina. Diluir la indometacina con una parte de etanol es útil para obtener la disolución.

Uno de los métodos utilizados para mejorar la solubilidad de la indometacina es el uso de su forma amorfa. Al ser su forma amorfa inestable, se hace uso de la dispersión sólida para tratar de estabilizado.

En el caso de la indometacina, la Tg es de alrededor de 320-324K y los puntos de fusión de 398-400K y 433-435K correspondientes a las formas alfa y gamma del cristal, respectivamente.

La forma más estable de la indometacina es la forma gamma, así que la forma amorfa se cristaliza a esta con el tiempo. Algunos excipientes, tales como xilitol, se están probando para aumentar la estabilidad de la forma amorfa.

-Unión a receptor

Ambas isoformas COX tienen sitios activos similares que difieren en la presencia de un bolsillo lateral en COX-2 situado por encima de la constricción Arg-120 / Tyr-355 / Glu-524 . En COX-2 este bolsillo lateral está rodeado por Val - 523 (Ile - 523 en COX-1), y en la parte inferior de la bolsa un Arg-513 (His - 513 en la mayoría de COX-1).

Teniendo en cuenta que los sitios de unión difieren entre ambas COX, la afinidad por ambas COX será distinta. La indometacina es un ejemplo de AINE que inhibe más la COX-1 que la COX-2. Así pues el ratio entre las concentraciones inhibitorias 50 (CI₅₀) de la indometacina COX-1/COX-2 es de 1'90 [3]. Por lo tanto y teniendo en cuenta que los efectos adversos son derivados eminentemente de la inhibición de la COX-1, será más plausible la aparición de efectos adversos.

La COX-1 cataliza la formación de prostaglandinas citoprotectoras en los trombocitos, endotelio vascular, mucosa estomacal, riñones, páncreas, islotes de Langerhans, vesículas seminales y cerebro.

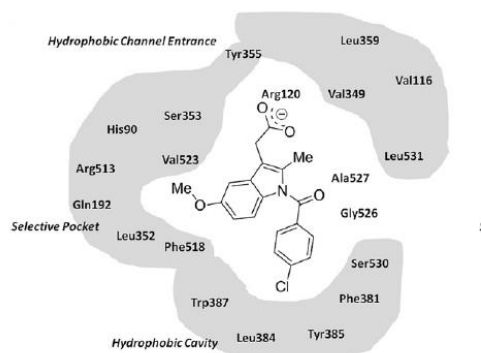


Figura 2. Unión de la indometacina a la COX-2

Las prostaglandinas PGI_2 y PGE_2 producidas por COX-1 mantienen la integridad del sistema gastrointestinal reduciendo la secreción ácida estomacal, engrosando la capa de moco, estimulando la secreción de bicarbonato y aumentando el flujo sanguíneo de la capa mucosa. Es por esto por lo que medicamentos como la indometacina causan más daño gastrointestinal, favoreciendo la aparición de úlceras gástricas.

Por la reducción de las prostaglandinas ya nombradas, que también están relacionadas con la regulación de la circulación sanguínea renal, se reducirá la tasa de filtración glomerular, conllevando un riesgo de hipertensión, retención de agua y fallo renal.

La indometacina y otros AINES pueden aumentar los niveles de creatinina en suero favoreciendo hipercalcemia, proteinuria y nefritis intersticial.

La inhibición de la COX en los trombocitos disminuye la producción del tromboxano A_2 . Esto disminuye la agregación plaquetaria y, por lo tanto, aumentando el tiempo de sangrado.

Por otra parte, los AINES pueden producir un aumento de enzimas hepáticas, lo que puede causar agranulocitosis, anemia aplásica y disfunción del metabolismo del cartílago entre otros.

Finalmente, una broncoconstricción con episodios asmáticos podría ser un efecto adverso grave derivado de la toma de indometacina. La disminución en PGE_2 (que es broncodilatadora) sumada a un cambio de la ruta de la COX a la ruta de la 5-lipooxigenasa facilitarían la broncoconstricción ya que esta última vía favorece la sobreproducción de ácido araquidónico (un leucotrienos) que no puede ser transformado por la COX al estar inhibida. Este ácido araquidónico es broncoconstrictor.

-Síntesis

Para la síntesis de la indometacina se parte de la p-metoxianilina que por vía sal de diazonio (a baja temperatura para que sea estable) se forma una fenilhidrazona.

Para generar el anillo indólico se recurre a la reacción de Fischer. Las fenilhidrazonas en medio ácido, en presencia de un catalizador donador de electrones como el trifluoruro de boro, el zinc anhidro y aportando calor, ocurre una transposición en la que se acaba eliminando amoníaco y agua y formándose el anillo indólico. Finalmente se arranca el protón del nitrógeno del anillo con una base (NaOH) y se añade el resto de la molécula que falta con el cloruro de ácido correspondiente. (Ver figura 3).

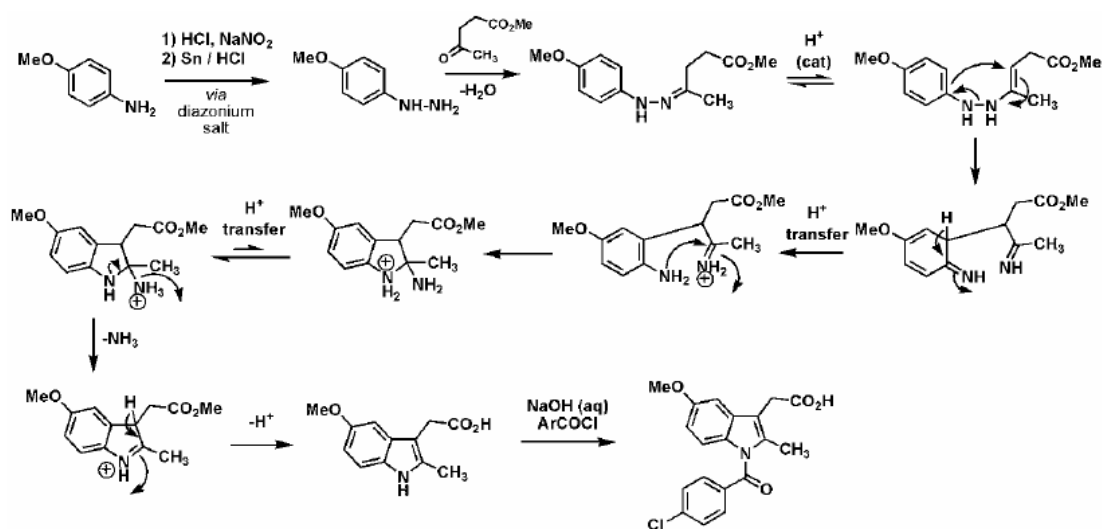


Figura 3. Síntesis de la indometacina

Xilitol [5], [6].

Xilitol (Fig. 2) es un polialcohol de cinco carbonos; es muy soluble en agua y su punto de fusión es 365-369K. También es resistente a la calefacción, y es ligeramente higroscópico.

El xilitol es considerado como un material esencialmente atóxico, no alérgico y no irritante. Aunque en el caso de dosis más altas puede causar efectos laxantes y molestias gastrointestinales transitorios; así que se recomienda la protección ocular y guantes durante la manipulación de la misma. A pesar de que el xilitol es inflamable que no se inflama fácilmente

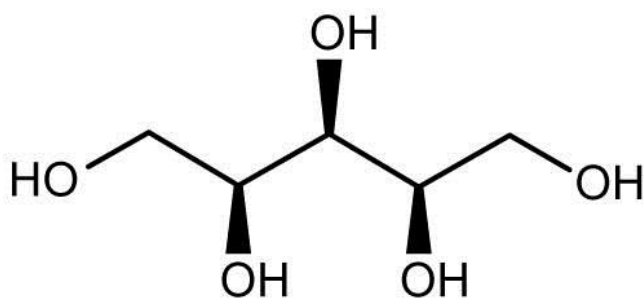


Figura 4. Estructura química de xilitol.

La caramelización se puede producir si se calienta durante minutos cerca de su punto de ebullición. Es incompatible con agentes oxidantes, éstos harían que el xilitol se oxidase a xilulosa. Sin embargo, se sabe que el xilitol cristalino es estable durante más de 3 años si se almacena a menos de 65% de humedad y 25°C.

Comúnmente se utiliza como un agente edulcorante no cariogénico. Además tiene propiedades emolientes y humectantes. El xilitol granulado en la elaboración de comprimidos se puede usar como diluyente y, por otra parte, se puede utilizar para producir comprimidos masticables.

Se puede utilizar como un excipiente en jarabes, con el fin de reducir la tendencia al "cap-locking" (El xilitol evita la cristalización alrededor de los cierres de botellas).

Por otra parte, se puede utilizar para estabilizar los sistemas amorfos y prevenir la cristalización.

Preparación de dispersión sólida de indometacina con xilitol.

En primer lugar, el xilitol se muele en un mortero con un mazo y después se tamiza con un tamiz analítico (así se tendrá un tamaño de partícula adecuado)

En segundo lugar, el xilitol tamizado se mezcla con indometacina (en distintas proporciones, así obteniendo distintas mezclas físicas) en un mortero con un mazo usando el método de dilución geométrica con fin de que la mezcla física sea homogénea.

Para poder comparar las características fisicoquímicas entre mezclas físicas y dispersiones sólidas se guardarán muestras estas mezclas físicas.

Las dispersiones sólidas se pueden preparar finalmente por el método de fusión. Las mezclas físicas previamente preparadas se funden sobre una placa caliente. El material fundido se enfría rápidamente con nitrógeno líquido a una temperatura de 73 K.

Ensayos de caracterización

-De disolución. [7]

La disolución de diferentes formas de estado sólido de indometacina se ensayan en aparatos de disolución de palas.

Las soluciones estándar para la curva de calibración se preparan usando una disolución de metanol en agua (20% v / v) como disolvente. Las muestras se miden con espectrofotómetro UV a 320 nm.

Las muestras se podrían tomar automáticamente con una bomba peristáltica y usando filtros de microfibras de vidrio en el aparato de disolución.

Como medio de disolución se utilizó la solución tampón de ácido clorhídrico (USP XXXV) a pH = 1'2 ya 310 K. Los 6 litros de tampón compuesto de 46 ml de HCl al 35%, 22'4 g de KCl y agua hasta 6 litros. El volumen de medio de disolución es de 900 ml y se realiza un muestreo cada 5 minutos durante 3 horas.

-Espectroscopía Raman [8], [9]

La espectroscopía Raman, tanto en la química de sólidos como en la industria, no sólo se utiliza como método de identificación de sustancias. También se utiliza en el ámbito de diferenciación de amorfos en caso de que un sólido posea distintos estados amorfos como lo es el caso de la indometacina.

En la espectroscopia Raman, la muestra se ilumina con un rayo láser monocromático que interactúa con las moléculas de la muestra y origina una luz dispersa. La luz dispersada tendrá una frecuencia diferente a la de la luz incidente (dispersión inelástica) y se utilizará para construir un espectro Raman. Los espectros Raman surgen debido a la colisión inelástica entre la radiación monocromática incidente y las moléculas de la muestra. Cuando una radiación monocromática golpea a la muestra, se dispersa en todas las direcciones después de su interacción con las moléculas de la muestra. Gran parte de esta radiación dispersada tendrá una frecuencia que es igual a la frecuencia de la radiación incidente y constituirá la dispersión de Rayleigh. Sólo una pequeña fracción de la radiación dispersada tendrá una frecuencia diferente de la frecuencia de la radiación incidente y constituirá la dispersión Raman. Cuando la frecuencia de radiación incidente es mayor que la frecuencia de radiación dispersa, las líneas de Stokes aparecerán en el espectro Raman. Pero cuando la frecuencia de la radiación incidente es menor que la frecuencia de la radiación dispersa, las líneas anti-Stokes aparecerán en el espectro Raman, esto es más raro que ocurra pues para ello la muestra debe estar excitada y por lo general la muestra está con el menor nivel de energía posible. La radiación dispersada se mide generalmente en ángulo recto a la radiación incidente.

El intervalo de análisis se hace entre 175 cm^{-1} y 3100 cm^{-1} . Se registra un total de 3 espectros con tiempo de integración de 30 segundos de cada muestra. Sin embargo, más tarde se utiliza un intervalo espectral de 800 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} para el análisis de datos multivariantes.

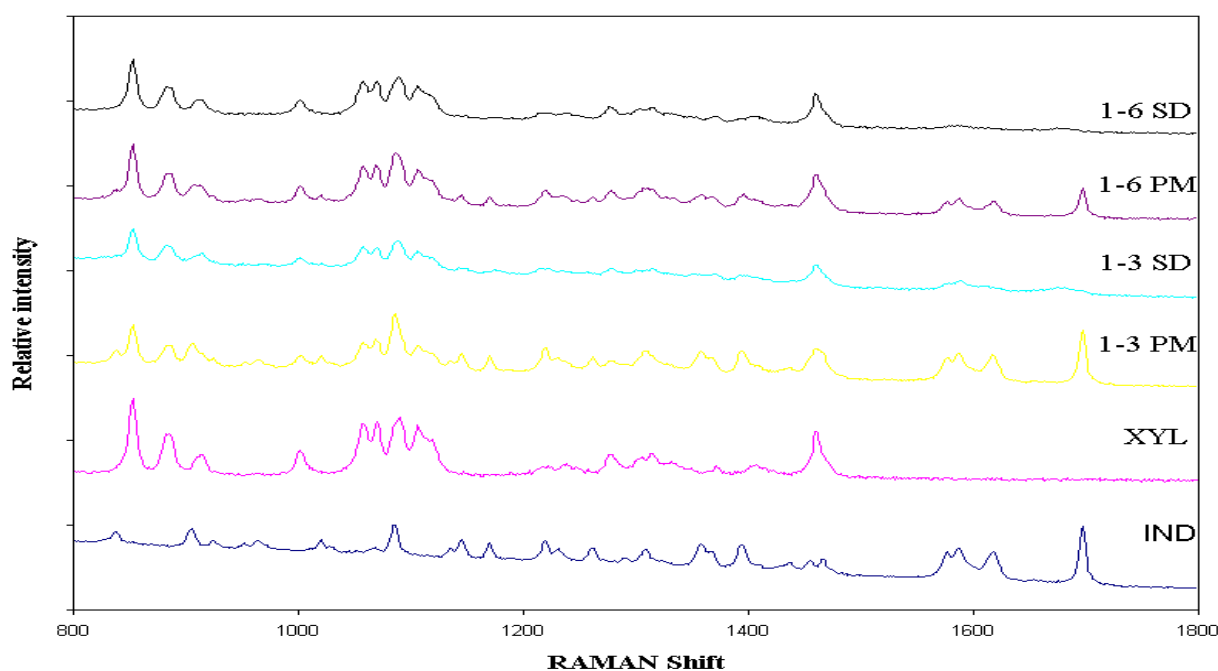


Figura 5. Espectros Raman de una dispersión sólida 1: 6 (1-6 SD) de indometacina con xilitol, mezcla física 1: 6 (1-6 PM) de indometacina con xilitol, dispersión sólida 1: 3 (1-3 SD) de indometacina con xilitol, mezcla física 1: 6 (1-3 PM) de indometacina con xilitol, xilitol (XYL) e indometacina (IND).

En la figura 5 se pueden observar los picos característicos de la indometacina en un espectro Raman [10] a 1580 cm^{-1} , 1590 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} y 1700 cm^{-1} aproximadamente.

El área más útil de los espectros Raman para detectar la forma de estado sólido de la indometacina según la imagen es de 1500 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} . En el caso de dispersiones sólidas, los picos se ensanchan considerablemente en esta región de número de onda en comparación con las mezclas físicas. Es difícil interpretar las otras partes del espectro de Raman debido a la superposición de los espectros de xilitol. Los espectros Raman de dispersiones sólidas muestran picos de indometacina ensanchados. Como los picos ensanchados son característicos de los materiales amorfos, se determina que la indometacina está en forma amorfa.

-Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier [11], [12] y [13]

El componente más importante de los espectrofotómetros IR-FT es el interferómetro de Michelson, gracias a éste tienen la capacidad de medir simultáneamente varias longitudes de onda. En el interferómetro el haz proveniente de la fuente primero se divide en dos haces gracias a un espejo semipermeable; estos dos haces se reflejarán en dos espejos, uno fijo y otro móvil, respectivamente, que volverán al espejo semipermeable recombinándose y generando una interferencia. Un desplazamiento en el espejo móvil generará una diferencia de fase entre los dos haces y con ello un cambio de amplitud en la interferencia. Más tarde pasará por la muestra y llegará al detector produciendo un interferograma (mide la diferencia en la trayectoria de ambos haces, el retardo). Por una serie de calculos (la transformada de Fourier) se obtendrá el espectro completo. El espectro da información sobre los grupos funcionales de las moléculas y así ayudar a identificarlas o bien verificar que no ha variado su estructura molecular al someterse a algún tipo de proceso.

La espectroscopía IR-FT se realiza sobre polvos usando un espectrofotómetro IR con transformada de Fourier. El intervalo de análisis escogido debe ser de 600 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} .

Este análisis es adecuado para determinar que las sustancias, en este caso la indometacina y el xilitol, no se han degradado durante el proceso de elaboración de la dispersión amorfa. Por otra parte puede llegar a dar una pequeña información sobre el posible estado cristalino o no de las sustancias en una dispersión sólida.

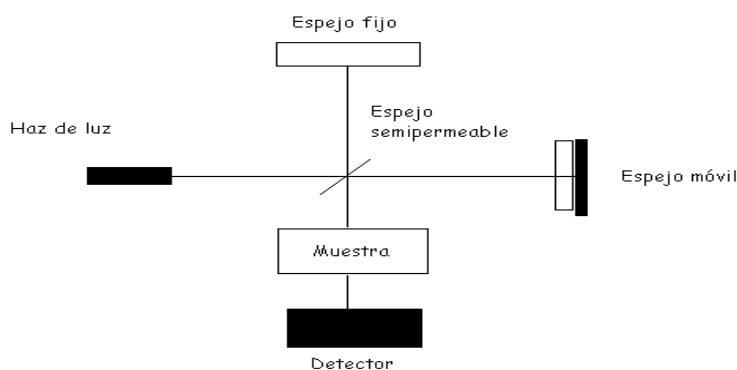


Figura 6. Diagrama simplificado del funcionamiento del espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier.

A continuación se muestra un ejemplo de espectro obtenido a partir de una espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier.

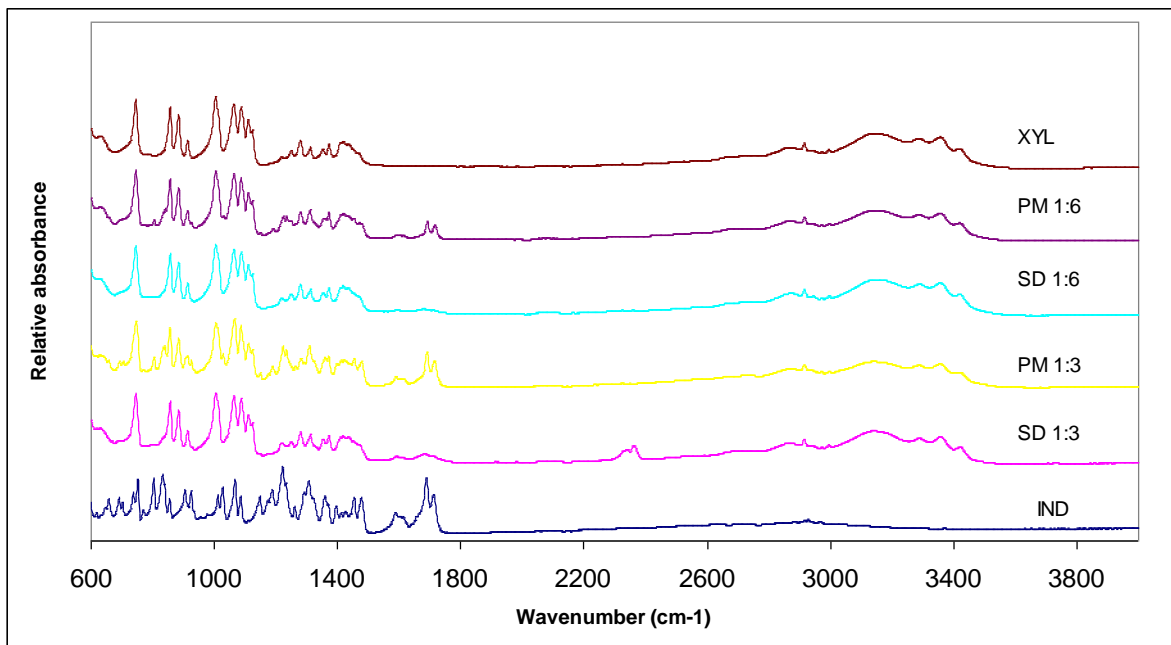


Figura 7. Espectro infrarrojo (FTIR) de una dispersión sólida 1: 6 (1-6 SD) de indometacina con xilitol, mezcla física 1: 6 (1-6 PM) de indometacina con xilitol, dispersión sólida 1: 3 (1-3 SD) de indometacina con xilitol, mezcla física 1: 6 (1- 3 PM) de indometacina con xilitol, xilitol (XYL) e indometacina (IND).

Los picos más notorios de la indometacina cristalina están en 1688 y 1711 cm^{-1} , lo que puede atribuirse a los grupos carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) (figura 7). En las dispersiones sólidas, los picos dados son considerablemente ensanchados. Podría ser un signo de una interacción entre grupos carbonilo de indometacina y grupos hidroxilo de xilitol sin embargo, no es posible detectar cambios en los picos de xilitol. Los picos de xilitol están en los mismos números de onda en los espectros de mezclas físicas y dispersiones sólidas, apoyando la teoría de que el xilitol está en estado cristalino en el caso de estas dispersiones sólidas.

-Difractometría de rayos X [14]

Con la difractometría se obtiene un difractograma que recoge los datos de la intensidad de los rayos difractados en función del ángulo en el que han sido difractados obteniéndose diferentes picos. La intensidad de los picos dependerá de distintos factores (estructurales, trigonométricos, de polarización...) estos picos se darán cuando un conjunto de planos de difracción cumplan la ley de Bragg (los rayos reemitidos desde los átomos en los que inciden los rayos X interferirán constructivamente cuando la diferencia de fase entre la radiación emitida entre dos átomos es proporcional a 2π), la anchura de estos picos se deberá a una combinación de factores instrumentales (carácter monocromático de la luz, divergencia del haz y anchura de las ventanas del aparato) con factores de la microestructura de la muestra (como lo son el tamaño de cristal y las tensiones).

Así pues en una muestra cristalina, en la que hay un alto número de átomos ordenados periódicamente, los rayos X se difractarán en un número de direcciones reducido dando así unos picos estrechos en el difractograma.

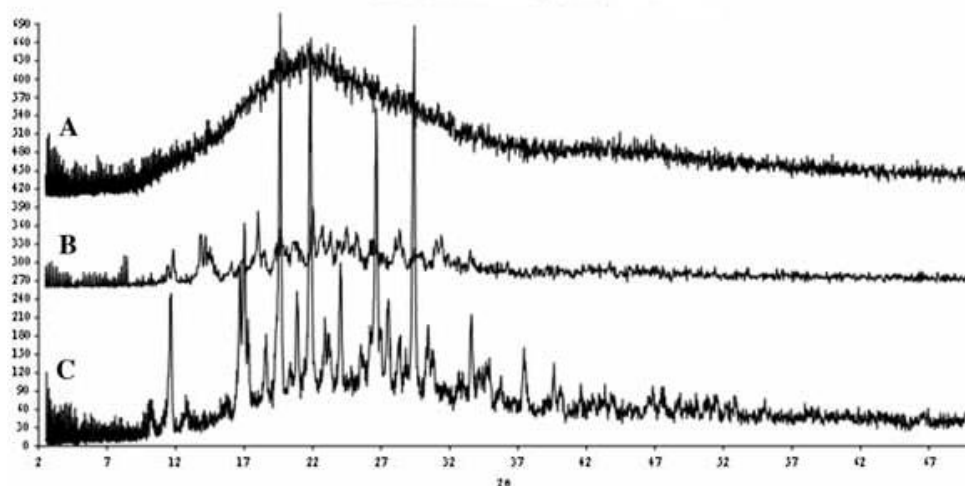


Figura 8. Difractograma de distintas formas de la indometacina. Perfil de la indometacina amorfa (A). Perfil de la indometacina alfa (B). Perfil de la indometacina gamma. [15]

Las muestras se miden de 5 a 40 °2θ usando un detector de línea LynxEye y el método de Bragg-Brentano. La muestra de polvo se llena en un pequeño contenedor en forma de

disco y su superficie cuidadosamente aplanada. El disco se coloca en un eje del difractómetro e inclinado por un ángulo θ mientras un detector (contador de centelleo) gira alrededor de él en un brazo al doble de este ángulo.

Como se puede observar en la figura 8 la indometacina amorfa sólo da un pico ancho entre $2\theta \approx 12$ y $2\theta \approx 37$ constantando así el estado amorfo de la indometacina. Pues al no haber un orden estructural se cumplirá la ley de Bragg de una manera más habitual a la par que aleatoria que en una estructura cristalina.

Conclusión

La indometacina es uno de los primeros antiinflamatorios sintetizados y desde entonces su producción no ha variado mucho. Su polimorfismo hace que sea donde se centran las investigaciones sobre su desarrollo y así constituir nuevas formulaciones. Al centrarse en formulaciones de compuestos amorfos, los análisis sobre la estructura cristalina, (como lo son la difracción de rayos X y la espectroscopía de Raman), del compuesto son de gran importancia; sin olvidarse de los ensayos básicos que siempre se requieren como el de disolución y análisis para verificar que los compuestos están inalterados tras sufrir distintos procesos durante la elaboración como la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (a pesar de que también ayude a identificar el estado cristalino o no de las sustancias). El entendimiento del fundamento de estos análisis será clave en el desarrollo de futuras formas farmacéuticas en cuestión de principios activos amorfos.

Referencias bibliográficas.

- [1] Nagapudi, K., Jona, J. (2008) “Amorphous Active Pharmaceutical Ingredients in Preclinical Studies: Preparation, Characterization, and Formulation” *Current Bioactive Compounds*. 2008, 4, 213-224.
- [2] Indomethacin | C₁₉H₁₆ClNO₄ - PubChem [Internet]. National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine; [citado 25 Octubre 2016]. Disponible en:
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3715#section=Use-and-Manufacturing>
- [3] Estevão. M, Carvalho. L, Freitas. M, Gomes. A, Viegas. A, Manso. (2012) “Indole based cyclooxygenase inhibitors: Synthesis, biological evaluation, docking and NMR screening”. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 54, 823-833.
- [4] Vardanyan RS, Hruby VJ. Synthesis of essential drugs. Amsterdam: Elsevier; 2006.
- [6] xylitol | C₅H₁₂O₅ - PubChem [Internet]. National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine; [citado 30 Octubre 2016]. Disponible en:
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/xylitol#section=Use-and-Manufacturing>
- [7] Löbmann, K., Flouda, K., Qiu, D., Tsolakou, T., Wang, W., Rades, T. (2014) “The Influence of Pressure on the Intrinsic Dissolution Rate of Amorphous Indomethacin” *Pharmaceutics* 6, 481-493.

- [8] Atef, E., Chauhan, H., Prasad, D., Kumari, D. and Pidgeon C. (2011) ‘‘Quantifying Solid-State Mixtures of Crystalline Indomethacin by Raman Spectroscopy Comparison with Thermal Analysis’’ *International Scholarly Research Network*, 2012.
- [9] Palchaudhuri, S., Rehse, S. J., Hamasha, K., Syed, T., Kurtovic, E., Kurtovic E. and Stenger, J. (2010) ‘‘Raman Spectroscopy of Xylitol Uptake and Metabolism in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria’’ *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (1), 131-137.
- [10] Fini A., Cavallari C., Ospitali, F. (2008) ‘‘ Raman and thermal analysis of indomethacin/PVP solid dispersion enteric microparticles’’ *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 409–420.
- [11] Wang, J., Cheung, M. K. and Mi, Y. (2001) ‘‘Miscibility and morphology in crystalline/amorphous blends of poly(caprolactone)/poly(4-vinylphenol) as studied by DSC, FTIR and ^{13}C solid state NMR.’’ *Polymer*, 43 (2002), 1357-1364.
- [12] Hishikawa, Y., Togawa, E., Kataoka, Y. and T. Kondo. (1999) ‘‘Characterization of amorphous domains in cellulosic materials using a FTIR deuteration monitoring analysis’’ *Polymer*, 40 (1999) 7117–7124.
- [13] Rojas-Oviedo, I., López, A., Quirino, C., Cárdenas, H. and García, R. (2012) ‘‘Perfil de liberación de indometacina desde acuosomas utilizando el método de diálisis’’ *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43 (2).

- [14] Rao, T. V. and Vidhyadhara, S. (2012) ‘‘Formulation and in vitro evaluation of indomethacin microcapsules’’ *International Journal of Chemistry Sciencies*, 10(1), 1-8.
- [13] Hancock, B. C. and Parks, M. (1999) ‘‘ What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals?’’ *Pharmaceutical Research*, 17 (4), 397-404.
- [14] Otsuka, M., Fumie Kato F. and Matsuda, Y. (2001) ‘‘ Determination of indomethacin polymorphic contents by chemometric near-infrared spectroscopy and conventional powder X-ray diffractometry’’ *Analyst*, 126, 1578-1582.
- [15] Aceves-Hernandez J, Nicolás-Vázquez I, Aceves F, Hinojosa-Torres J, Paz M, Castaño V. (2009) ‘‘Indomethacin polymorphs: Experimental and conformational analysis.’’ *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98 (7):2448–63.